Flavobacterium sp. M1-14 发酵生产 VK_2 过程的温度与 $k_L\alpha$ 控制策略

吴荷芳，王鹏，王晗，赵根海，刘会，王丽，尉鸿飞，方雪，郑之明*
中国科学院 合肥物质科学研究院 离子束生物工程学重点实验室，合肥 230031

维生素 K_2（VK_2）是一系列具有异戊二烯侧链的甲萘醌类化合物，根据侧链长短不同，以 MK-n 表示。高活性 VK_2 主要由微生物合成，具有防治骨质疏松症、出血症、肝硬化及帕金森症等疾病的生理功能。黄杆菌是其重要生产菌株，可合成包括 MK4，MK5 和 MK6 多种 VK_2 同系物。

我们发现通过调控发酵温度，可以控制黄杆菌合成 VK_2 的同系物类型和产量。在 20~37℃范围内，25℃时 *Flavobacterium* sp. M1-14 生长最好，生物量达到 8.8 g/L，但发酵产物完全是 MK6，产量为 13.9 mg/L，单位菌体产量 1.6 mg/g。当发酵温度高于 30℃，黄杆菌可同时合成 MK4、MK5 和 MK6。37℃时，MK4 和 MK5 产量最高，分别为 1.6mg/L 和 1.7mg/L，VK_2 总量 12.5 mg/L，但此时生物量仅 5.5g/L，单位菌体产量为 2.3mg/g。针对黄杆菌菌体生长和 VK_2 同系物合成的最适温度差异，考虑采用变温发酵提高生物量和 VK_2 产量。经多因素优化后，我们开发出先低温后高温的两段式变温策略，即 25℃先发酵 48 小时，之后转为 37℃继续发酵 96 小时，VK_2 产量达到 20.9 mg/L（其中 MK4 为 2.1 mg/L，MK5 为 2.3 mg/L、MK6 为 16.5mg/L），生物量为 8.8g/L，单位菌体产量 2.4mg/g。

继而，在 30L 发酵罐上，我们通过控制通气量和转速，考察了不同温度发酵对氧需求情况。发现在 25℃和 37℃时，黄杆菌发酵合成 VK_2 的最佳 k_La 分别为 360 h^{-1} 和 60 h^{-1}。针对变温发酵过程中菌体对氧需求的变化，我们开发了两阶段变 k_La 控制策略。优化后在变温发酵前期 24 小时 k_La 为 360 h^{-1}，之后 120 小时 k_La 为 60 h^{-1}，VK_2 产量达到 28.7 mg/L，（其中 MK4 为 2.8mg/L，MK5 为 3.4 mg/L、MK6 为 22.5 mg/L），较起始提高了 107%，生物量为 15.5 g/L，单位菌体产量 1.9 mg/g。

通过变温变 k_La 分阶段发酵调控策略，可以改变黄杆菌合成 VK_2 的同系物类型，明显提高 VK_2 产量，为实现 VK_2 生物制备的工业化奠定了优化的基础。

吴荷芳：1986 年 6 月，博士研究生，中国科学院合肥物质科学研究院离子束生物工程学重点实验

室，brandy12590@126.com